

TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS

PCT

RAPPORT PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL SUR LA BREVETABILITÉ



(chapitre II du Traité de coopération en matière de brevets)

(article 36 et règle 70 du PCT)

REC'D 20 DEC 2005

WIPO

PCT

Référence du dossier du déposant ou du mandataire	POUR SUITE À DONNER		voir formulaire PCT/PEA/416
Demande internationale No. PCT/FR2004/002687	Date du dépôt international (jour/mois/année) 20.10.2004	Date de priorité (jour/mois/année) 20.10.2003	
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C07K16/34, C07K16/00, A61K39/395			
Déposant LABORATOIRE FRANCAIS DU FRACTIONNEMENT ...			
<p>1. Le présent rapport est le rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international en vertu de l'article 35 et transmis au déposant conformément à l'article 36.</p> <p>2. Ce RAPPORT comprend 11 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.</p> <p>3. Ce rapport est accompagné d'ANNEXES, qui comprennent :</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> un total de (envoyées au déposant et au Bureau international) 7 feuilles, définies comme suit :</p> <p style="margin-left: 40px;"><input checked="" type="checkbox"/> les feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou des feuilles contenant des rectifications autorisées par la présente administration (voir la règle 70.16 et l'instruction administrative 607).</p> <p style="margin-left: 40px;"><input type="checkbox"/> des feuilles qui remplacent des feuilles précédentes, mais dont la présente administration considère qu'elles contiennent une modification qui va au-delà de l'exposé de l'invention qui figure dans la demande internationale telle qu'elle a été déposée, comme il est indiqué au point 4 du cadre n° I et dans le cadre supplémentaire.</p> <p>b. <input type="checkbox"/> (envoyées au Bureau international seulement) un total de (préciser le type et le nombre de support(s) électronique(s)) , qui contiennent un listage de la ou des séquences ou un ou des tableaux y relatifs, déposés sous forme déchiffrable par ordinateur seulement, comme il est indiqué dans le cadre supplémentaire relatif au listage de la ou des séquences (voir l'instruction administrative 802).</p>			
<p>4. Le présent rapport contient des indications et les pages correspondantes relatives aux points suivants :</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Cadre n° I Base de l'opinion</p> <p><input type="checkbox"/> Cadre n° II Priorité</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Cadre n° III Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Cadre n° IV Absence d'unité de l'invention</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Cadre n° V Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration</p> <p><input type="checkbox"/> Cadre n° VI Certains documents cités</p> <p><input type="checkbox"/> Cadre n° VII Irrégularités dans la demande internationale</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Cadre n° VIII Observations relatives à la demande internationale</p>			
Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 10.10.2005		Date d'achèvement du présent rapport 20.12.2005	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international  Office européen des brevets - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tél. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016		Fonctionnaire autorisé Le Flao, K N° de téléphone +31 70 340-1040 	

RAPPORT PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL SUR LA BREVETABILITÉ

Demande internationale n°
PCT/FR2004/002687

Case No. 1 Base du rapport

1. En ce qui concerne la **langue**, le présent rapport est établi sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.
 - ☐ Le présent rapport est établi sur la base de traductions réalisées à partir de la langue d'origine dans la langue suivante ,qui est la langue d'une traduction remise aux fins de :
 - ☐ la recherche internationale (selon les règles 12.3 et 23.1.b))
 - ☐ la publication de la demande internationale (selon la règle 12.4)
 - ☐ l'examen préliminaire international (selon la règle 55.2 ou 55.3)
2. En ce qui concerne les **éléments*** de la demande internationale, le présent rapport est établi sur la base des éléments suivants *(les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport.)* :

Description, Pages

1-35 telles qu'initialement déposées

La partie de la description réservée au listage des séquences, Pages

1-4 telles qu'initialement déposées

Revendications, No.

1-40 reçue(s) le 10.10.2005 avec lettre du 04.10.2005

Dessins, Feuilles

1/9-9/9 telles qu'initialement déposées

- ☒ En ce qui concerne un listage de la ou des séquences ou un ou des tableaux y relatifs, voir le cadre supplémentaire relatif au listage de la ou des séquences.

3. ☐ Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages
- ☐ des revendications, nos
- ☐ des dessins, feuilles/fig.
- ☐ du listage de la ou des séquences (*préciser*) :
- ☐ d'un ou de tous les tableaux relatifs au listage de la ou des séquences (*préciser*) :

4. ☐ Le présent rapport a été établi abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué dans le cadre supplémentaire (règle 70.2.c)).

- ☐ de la description, pages
- ☐ des revendications, nos
- ☐ des dessins, feuilles/fig.
- ☐ du listage de la ou des séquences (*préciser*) :
- ☐ d'un ou de tous les tableaux relatifs au listage de la ou des séquences (*préciser*) :

* Si le cas visé au point 4 s'applique, certaines ou toutes ces feuilles peuvent être revêtues de la mention "remplacé".

Case No. III Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle

1. La question de savoir si l'objet de l'invention revendiquée semble être nouveau, impliquer une activité inventive (ne pas être évident) ou être susceptible d'application industrielle n'a pas été examinée pour ce qui concerne :

☐ l'ensemble de la demande internationale,

☒ les revendications nos 1-10

parce que :

☒ la demande internationale, ou les revendications nos 1-10 en question, se rapportent à l'objet suivant, à l'égard duquel l'administration chargée de l'examen préliminaire international n'est pas tenue d'effectuer un examen préliminaire international (*préciser*) :

voir feuille séparée

☐ la description, les revendications ou les dessins (*en indiquer les éléments ci-dessous*), ou les revendications en question ne sont pas clairs, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable (*préciser*) :

☐ les revendications, ou les revendications nos en question, ne se fondent pas de façon adéquate sur la description, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable.

☐ il n'a pas été établi de rapport de recherche internationale pour les revendications nos en question.

☐ le listage de la ou des séquences de nucléotides ou d'acides aminés n'est pas conforme à la norme prévue dans l'annexe C des instructions administratives car :

le listage présenté par écrit ☐ n'a pas été fourni

☐ n'est pas conforme à la norme

le listage sous forme déchiffrable par ordinateur

☐ n'a pas été fourni

☐ n'est pas conforme à la norme

☐ le ou les tableaux relatifs au listage des séquences de nucléotides ou d'acides aminés -lorsqu'ils sont sous forme déchiffrable par ordinateur seulement- ne sont pas conformes aux exigences techniques prévues dans l'annexe C-bis des instructions administratives.

☐ Voir le cadre supplémentaire pour de plus amples détails.

RAPPORT PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL SUR LA BREVETABILITÉ

Demande internationale n°
PCT/FR2004/002687

Case No. IV Absence d'unité de l'invention

1. ☒ En réponse à l'invitation à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles, le déposant a :
- ☐ limité les revendications.
 - ☐ payé des taxes additionnelles.
 - ☒ payé des taxes additionnelles sous réserve.
 - ☐ ni limité les revendications ni payé des taxes additionnelles.
2. ☐ L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime qu'il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité d'invention et décide, conformément à la règle 68.1, de ne pas inviter le déposant à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles.
3. L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime que, aux termes des règles 13.1, 13.2 et 13.3,
- ☐ il est satisfait à l'exigence d'unité de l'invention.
 - ☒ il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité de l'invention, et ce pour les raisons suivantes :
voir feuille séparée
4. En conséquence, le présent rapport a été établi à partir des parties suivantes de la demande internationale :
- ☐ toutes les parties de la demande.
 - ☒ les parties relatives aux revendications nos 1-28, 31-40 .

Cadre n° V Déclaration motivée selon l'article 35.2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration Nouveauté	Oui:	Revendications	3-5, 11-28, 31-40
	Non:	Revendications	1, 2, 6-10
Activité inventive	Oui:	Revendications	
	Non:	Revendications	1-28, 31-40
Possibilité d'application industrielle	Oui:	Revendications	11-28, 31-40
	Non:	Revendications	1-10

2. Citations et explications (règle 70.7) :

voir feuille séparée

Cadre n° VIII Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

voir feuille séparée

**RAPPORT PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL
SUR LA BREVETABILITÉ**

Demande internationale n°
PCT/FR2004/002687

Cadre supplémentaire relatif au listage de la ou des séquences

Suite du cadre n° 1, point 2:

1. En ce qui concerne **la ou les séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale, le cas échéant, le présent rapport a été établi sur la base des éléments suivants :

a. Nature de l'élément :

- ☒ un listage de la ou des séquences
- ☐ un ou des tableaux relatifs au listage de la ou des séquences

b. Type de support :

- ☒ sur papier sous forme écrite
- ☒ sur support électronique sous forme déchiffrable par ordinateur

c. Moment du dépôt ou de la remise :

- ☒ contenu(s) dans la demande internationale telle que déposée
- ☒ déposé(s) avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur
- ☐ remis ultérieurement à la présente administration aux fins de la recherche ou de l'examen
- ☐ reçu(s) par la présente administration sous forme d'une modification, le

2. ☐ De plus, lorsque plus d'une version ou d'une copie d'un listage des séquences ou d'un ou plusieurs tableaux y relatifs a été déposée, les déclarations requises selon lesquelles les informations fournies ultérieurement ou au titre de copies supplémentaires sont identiques à celles initialement fournies et ne vont pas au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle que déposée initialement, selon le cas, ont été remises.

3. Observations complémentaires, le cas échéant :

Concernant le point III

La présente Administration considère que l'objet des revendications 1-10 est visé par les dispositions de la règle 67.1 (iv) PCT. C'est pourquoi il ne sera pas émis d'opinion quant à la question de savoir si l'objet de ces revendications est susceptible d'application industrielle (article 34(4) a) i) PCT).

Concernant le point IV

Cette Administration considère que les revendications couvrent les trois inventions suivantes:

- i Les revendications 1-10 et 28 se rapportent à **l'utilisation** de cations métalliques divalents ou trivalents pour améliorer l'activité fonctionnelle d'anticorps.
- ii Les revendications 11-27 et 31-40 sont en relation avec le problème de fournir un **anticorps modifié** possédant un site de fixation pour un cation métallique divalent ou trivalent.
- iii Les revendications 29 et 30 concernent l'utilisation d'ions zinc pour **cristalliser** des anticorps.

Les raisons pour lesquelles la présente demande porte sur trois inventions non liées entre elles de telle sorte qu'elles ne formeraient qu'un seul concept inventif général, comme le requiert la règle 13.1 PCT, sont les suivantes:

Le document WO9116912 (D1) décrit la région adjacente au domaine variable se liant à l'antigène des anticorps comme une région formant un site de liaison à un métal (p.2, l.14 - p.3, l.13). De D1 est connu un anticorps QM212 se liant au zinc, au cadmium et au cuivre (Figures 1-4 et légende p.4 - p.5). Il est donc connu de D1 l'utilisation de cations métalliques divalents pour améliorer l'activité fonctionnelle d'anticorps. Le document XP002056577 (D2) décrit l'utilisation de solutions contenant du zinc afin d'améliorer la liaison des anticorps aux antigènes en immunohistochimie (voir l'abrégé de D2).

Ces documents divulguent différents liens entre anticorps et cation métallique divalent ou trivalent : site de liaison en dehors du domaine variable ou amélioration de la liaison à l'antigène. Le fait que les cations métalliques divalents ou trivalents puissent être associés à des anticorps ne peut donc pas être le concept unique inventif liant les différentes inventions.

En conséquence chaque solution représente une invention distincte, caractérisée par ses propres caractéristiques techniques.

Dans la présente demande il ne semble pas y avoir d'autre caractéristique technique particulière au sens de la règle 13.2 PCT qui pourrait former un concept unique inventif. Que la liaison d'un cation à un anticorps via le fragment Fc améliore l'activité fonctionnelle est une hypothèse qui ne constitue pas de caractéristique technique au sens de la règle 13.2 PCT.

L'analyse ci-dessus montre que ni les éléments techniques particuliers des groupes d'invention ni les problèmes objectifs à résoudre par ces inventions ne sont identiques ou correspondants, et qu'aucun concept inventif général ne lie entre eux les groupes d'inventions. La présente demande ne remplit donc pas les conditions d'unité d'invention énoncées dans les règles 13.1 et 13.2 PCT.

Concernant le point V

INVENTION I

Il est fait référence aux documents suivants :

- D1: WO 91/16912 A (Scripps Clinic and Research Foundation) 14 novembre 1991
- D2: BECKSTEAD JAY H: "A simple technique for preservation of fixation-sensitive antigens in paraffin-embedded tissues" JOURNAL OF HISTOCHEMISTRY AND CYTOCHEMISTRY, vol. 42, no. 8, 1994, pages 1127-1134, XP002056577
- D3: MINTZE KAREN ET AL: "Optimization of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunohistochemical staining: A comparison of methods using three commercial antibodies, various fixation times, and antigen retrieval solution" JOURNAL OF HISTOTECHNOLOGY, vol. 18, no. 1, 1995, pages 25-30, XP008032090

NOUVEAUTÉ

Le document D1 décrit la région adjacente au domaine variable se liant à l'antigène des anticorps comme une région formant un site de liaison à un métal (p.2, l.14 - p.3, l.13). De D1 est connu un anticorps QM212 se liant au zinc, au cadmium et au cuivre (Figures 1-4 et

légende p.4 - p.5). Il est donc connu de D1 l'utilisation de cations métalliques divalents pour améliorer l'activité fonctionnelle d'anticorps puisque le terme "améliorer l'activité fonctionnelle d'anticorps" est vague et général (voir point VIII). Les revendications 1, 2 et 6-10 ne sont par conséquent pas nouvelles par rapport à D1. Les revendications 3-5 et 28 sont nouvelles.

ACTIVITÉ INVENTIVE

Les revendications 3-5 et 28 sont nouvelles mais n'ont pas de support technique dans la description (voir point VIII ci dessous). Elles constituent par conséquent des solutions arbitraires et n'impliquent pas d'activité inventive.

APPLICATION INDUSTRIELLE

Il n'existe pas de critère unifié dans les Etats parties au PCT pour déterminer si les revendications 1-10 sont susceptibles d'application industrielle. La brevetabilité peut aussi dépendre de la manière dont les revendications ont été formulées. Ainsi, l'Office européen des brevets ne considère pas comme susceptible d'application industrielle l'objet de revendications d'utilisation d'un composé à des fins médicales. Par contre, peuvent être acceptées des revendications relatives à un composé connu, pour une première utilisation à des fins médicales ainsi que des revendications relatives à l'utilisation d'un tel composé dans la fabrication d'un médicament en vue d'un nouveau traitement médical.

INVENTION II

Il est fait référence aux documents suivants :

- D4: FIRAN MIHAIL ET AL: "The MHC class I-related receptor, FcRn, plays an essential role in the maternofetal transfer of gamma-globulin in humans" INTERNATIONAL IMMUNOLOGY, vol. 13, no. 8, août 2001, pages 993-1002, XP002333400
- D5: JEFFERIS R ET AL: "IgG-Fc-mediated effector functions: molecular definition of interaction sites for effector ligands and the role of glycosylation" IMMUNOLOGICAL REVIEWS, vol. 163, juin 1998 , pages 59-76, XP001203450
- D6: WO 01/77181 A1 (Glacet Arnaud et al) 18 octobre 2001

NOUVEAUTE

Les revendications 11-19 sont nouvelles car elles se rapportent à un anticorps de type IgG3. Les revendications 20-27 sont nouvelles et diffèrent de D6 en ce que la teneur en cations métalliques est au moins égale à la teneur en anticorps. Les revendications 31-40 sont nouvelles car elles concernent un anticorps ayant les résidus His 310 et His 435 modifiés.

ACTIVITE INVENTIVE

L'objet de la revendication 11 diffère de la divulgation de D4, considéré être l'état de la technique le plus proche en ce qu'il s'agit d'un anticorps de classe IgG3 comprenant les résidus His 310 et His 435 sur sa région Fc créé par ingénierie moléculaire. L'hypothèse qui mène aux expériences décrites dans les exemples 3 et 4 est la suivante : les résidues His 310 et His 435 jouent un rôle essentiel dans la liaison du cation zinc à l'interface CH2-CH3 des IgG1 (p.27, l.13 - l.16). Les expériences de mutagenèse ont été effectuées avec l'anticorps EMAB5 (p.27, l.22), qui est un anticorps de type IgG1. Il est donc considéré qu'aucun effet technique associé à la différence n'a été démontré dans la présente application. Aussi la solution revendiquée ne résout pas le problème technique qui est de fournir un anticorps de classe IgG3 possédant un site de fixation pour un cation métallique sur sa région Fc créé par ingénierie moléculaire. La revendication 11 n'implique pas par conséquent d'activité inventive. Le même raisonnement s'applique aux revendications 12-19.

Les revendications 20-27 ne sont pas inventives par rapport à D6 qui décrit l'anticorps R297, un anticorps de type IgG1 anti Rhésus D produit dans la même lignée cellulaire que EMAB5 (YB2/0) et ayant les mêmes propriétés que EMAB5. Que R297 ait les résidus His 310 et His 435 est considéré être une caractéristique technique implicite puisque ce sont les résidus classiques d'une IgG1. Aucun effet particulier n'est associé à la différence et ces revendications constituent donc des solutions arbitraires qui n'impliquent pas d'activité inventive.

L'objet de la revendication 35 diffère de D4, qui décrit un anticorps humanisé de type IgG1 comportant la mutation H435A qui ne se lie plus au FcRn récepteur, en ce qu'il s'agit d'un anticorps possédant les résidus His 310 et His 435 substitués par des résidus lysine alors que D4 décrit la substitution His 310 Ala (D4, résumé et p.996 : H310A). Aucun effet particulier n'est associé à la différence puisque l'anticorps muté décrit dans D4 ne se lie pas au récepteur FcRn, ce qui démontre que le résidu H310 seul est essentiel pour la liaison au récepteur. Le problème technique est donc de fournir un anticorps alternatif dépourvu de la

capacité de liaison au récepteur Fc gamma. La solution proposée est considérée être un choix arbitraire, ce qui n'implique pas d'activité inventive.

Concernant le point VIII

Les exemples de la description font référence à l'anticorps anti Rhésus-D EMAB5 (p.19 à p.32). Il est considéré que le nom EMAB5 est une désignation interne. Le document D6 décrit un anticorps équivalent alors appelé R297 (qui est également une désignation interne). Si l'anticorps a été déposé auprès d'une autorité de dépôt habilitée il serait préférable d'utiliser un référence issue de la désignation officielle telle qu'elle apparaît dans le numéro d'ordre de la matière biologique déposée afin d'éviter l'utilisation de désignations internes.

INVENTION I

Les revendications 1-7 qui concernent l'utilisation de cations métalliques pour améliorer l'activité fonctionnelle d'anticorps ne satisfont pas aux conditions requises à l'article 6 PCT, dans la mesure où l'objet pour lequel une protection est recherchée n'est pas clairement défini ni supporté par la description.

Premièrement l'utilisation du terme "améliorer l'activité fonctionnelle d'anticorps" dans la revendication 1 définit cet objet par le résultat à atteindre, ce qui revient simplement à énoncer le problème fondamental que doit résoudre l'invention, sans fournir les caractéristiques techniques nécessaires pour parvenir à ce résultat.

Deuxièmement la revendication 1, relative à une indication médicale car ne contenant pas la limitation "in vitro", n'est pas recevable en vertu de l'article 6 PCT. L'utilisation thérapeutique est définie fonctionnellement par un mécanisme d'action qui ne permet pas une application pratique sous la forme d'un véritable traitement bien défini d'un état pathologique (maladie) (C-IV, 4.2). Comme en outre l'utilisation médicale n'a pas de support dans la description, l'objection ne pourrait être contournée qu'en limitant la revendication 1 à une utilisation in vitro. Cette dernière remarque s'applique également à la revendication 8.

L'objet des revendications indépendantes 1, 8 et 28 n'est pas supporté par la description

**RAPPORT PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL
SUR LA BREVETABILITÉ
(FEUILLE SÉPARÉE)**

Demande internationale n°

PCT/FR2004/002687

puisque'il n'a été démontré ni que des cations métalliques divalents ou trivalents améliorent l'activité fonctionnelle d'anticorps ni que des solutions selon la revendication 28 ont un intérêt particulier.

INVENTION II

L'objet des revendications 11-27 qui se rapporte à des anticorps de type IgG3 et celui des revendications 39 et 40 n'a aucun support technique dans la description dont les exemples se rapportent à un anticorps anti Rhésus D de type IgG1 (EMAB 5 dans les exemples, aussi appelé R297 dans D6), ce qui est contraire à l'Article 6 PCT.

REVENDICATIONS

1. Utilisation de cations métalliques divalents ou trivalents pour améliorer l'activité
5 fonctionnelle d'anticorps, ladite activité fonctionnelle étant l'activité ADCC
(Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity), l'activité CDC (Complement
Dependent Cytotoxicity), l'activité de phagocytose, l'activité d'endocytose ou
l'induction de la sécrétion de cytokines.
- 10 2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que lesdits anticorps sont des
IgG humaines ou ayant une région Fc humaine.
3. Utilisation selon l'une de revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que lesdits
cations interagissent avec la région Fc desdits anticorps.
- 15 4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que
lesdits cations participent au contrôle de l'ouverture de la région Fc desdits anticorps.
5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que
20 lesdits cations favorisent la fixation desdits anticorps aux récepteurs Fc γ R, notamment
au récepteur Fc γ RIII.
6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que
ledit cation est le zinc, le fer, le cuivre ou le cadmium.
- 25 7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que
ledit cation est le zinc.

8. Méthode pour potentialiser l'activité fonctionnelle d'anticorps, ladite activité fonctionnelle étant l'activité ADCC (Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity), l'activité CDC (Complement Dependent Cytotoxicity), l'activité de phagocytose, l'activité d'endocytose ou l'induction de la sécrétion de cytokines, comprenant une
- 5 étape consistant à ajouter une quantité appropriée d'au moins un cation métallique divalent ou trivalent dans le système biologique produisant les anticorps ou dans une solution comprenant des anticorps avant et/ou après purification ou encore dans la solution de conservation ou dans la formulation finale sous la forme d'une solution injectable des anticorps.
- 10
9. Méthode selon la revendication 8, caractérisée en ce que ledit cation est le zinc, le fer, le cuivre ou le cadmium.
10. Méthode selon la revendication 9, caractérisée en ce qu'on ajoute une concentration
- 15 molaire en zinc au moins égale à la concentration molaire en anticorps.
11. Anticorps de classe IgG3 possédant un site de fixation pour un cation métallique divalent ou trivalent comprenant les résidus His 310 et His 435 (numérotation de Kabat) sur sa région Fc créé par ingénierie moléculaire.
- 20
12. Anticorps selon la revendication 11, caractérisé en ce que ledit site de fixation comprend le résidu Asn 434 et/ou le résidu His 433 (numérotation de Kabat).
13. Anticorps selon l'une quelconque des revendication 11 ou 12, caractérisé en ce que
- 25 ledit site de fixation est créé par substitution de l'Arg 435 par l'His 435.
14. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 11 à 12, caractérisé en ce que l'un au moins desdits résidus histidine est remplacé par un au moins des résidus choisis parmi la cystéine, l'acide aspartique et l'acide glutamique.

15. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 11 à 14, caractérisé en ce qu'il possède un cation métallique divalent ou trivalent fixé sur ledit site de fixation.
- 5 16. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 11 à 15, caractérisé en ce que ledit cation est le zinc, le fer, le cuivre ou le cadmium.
17. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 11 à 16, caractérisé en ce que l'allotype dudit anticorps est G3m(b) ou G3m(g).
- 10 18. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 11 à 17, caractérisé en ce qu'il possède une fixation au Fc γ RIII améliorée et une activité fonctionnelle améliorée par rapport à l'anticorps natif, ladite activité fonctionnelle étant l'activité ADCC (Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity), l'activité CDC (Complement
- 15 Dependent Cytotoxicity), l'activité de phagocytose, l'activité d'endocytose ou la capacité d'induction de la sécrétion de cytokines.
19. Utilisation de l'anticorps selon l'une quelconque des revendications 11 à 18 pour la préparation d'un médicament pour le traitement des pathologies comme la maladie
- 20 hémolytique du nouveau-né, une pathologie virale, bactérienne ou parasitaire, une pathologie liée aux agents pathogènes ou toxines dérivées, listés comme étant particulièrement dangereux dans les cas de bioterrorisme (classification des Centers for Disease Control, CDC), notamment l'anthrax (*Bacillus anthracis*), le botulisme (*Clostridium botulium*), la peste (*Yersinia pestis*), la variole (*Variola major*), la
- 25 tularémie (*Francisella tularensis*), les fièvres hémorragiques virales (liées aux filovirus –Ebola, Marburg et aux arenavirus –Lassa, Machupo), la toxine *epsilon* de *Clostridium perfringens*, la brucellose (*Brucella species*), la melioidose (*Burkholderia mallei*), la toxine de ricin (*Ricinus communis*).

20. Composition pharmaceutique d'anticorps thérapeutiques comprenant des cations métalliques divalents ou trivalents dont la teneur est au moins égale à la teneur en anticorps, et au moins un excipient.
- 5 21. Composition selon la revendication 20, caractérisée en ce que lesdits anticorps possèdent un cation métallique divalent ou trivalent sur les résidus His 310 et His 435 (numérotation de Kabat).
- 10 22. Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 20 à 21, caractérisée en ce que lesdits anticorps sont les anticorps des revendications 11 à 18 ou des IgG humaines ou ayant une région Fc humaine.
- 15 23. Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 20 à 22, caractérisée en ce que les cations métalliques sont le zinc, le fer, le cuivre ou le cadmium, ou un mélange de plusieurs d'entre eux.
- 20 24. Composition pharmaceutique selon la revendication 23, caractérisée en ce que ledit cation est le zinc, notamment de l'acétate de zinc, du bromure de zinc, du citrate de zinc, de l'hydroxycarbonate de zinc, de l'iodure de zinc, du L-lactate de zinc, du nitrate de zinc, du stéarate de zinc, du gluconate de zinc, du sulphate de zinc, du chlorure de zinc ou du chlorhydrate de zinc.
- 25 25. Composition pharmaceutique dans laquelle au moins 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, ou encore 99% des anticorps possèdent un cation métallique divalent ou trivalent lié, notamment lié au site comprenant les résidus His 310 et His 435 (numérotation de Kabat).
26. Composition selon la revendication 25, caractérisée en ce que ledit site comprend les résidus His 433 et/ou Asn 434 (numérotation de Kabat).

27. Composition selon l'une quelconque des revendications 25 ou 26, caractérisée en ce que ledit cation métallique est le zinc, le fer, le cuivre ou le cadmium, ou un mélange de plusieurs d'entre eux.

5

28. Solution comprenant un anticorps monoclonal ou des anticorps polyclonaux et une quantité appropriée en cation métallique divalent ou trivalent, en particulier une concentration en ions zinc au moins égale à la concentration en anticorps, ladite solution étant adaptée pour une injection par voie intraveineuse, intramusculaire, ou sous-cutanée.

10

29. Utilisation d'ions zinc pour améliorer la cristallisation d'anticorps thérapeutiques.

15

30. Test permettant d'évaluer l'efficacité d'un anticorps comprenant l'étude de la conformation 3D du domaine impliquant His 310, His 435, His 433 et/ou Asn 434 (numérotation de Kabat) telle que montrée à la figure 1 ou 2 ou encore un dosage de la teneur en Zinc desdits anticorps, la présence de zinc étant une indication de l'efficacité de l'anticorps.

20

31. Anticorps possédant ses résidus His 310 et His 435 modifiés (numérotation de Kabat).

32. Anticorps selon la revendication 31, caractérisée en ce que ladite modification est une mutation.

25

33. Anticorps selon la revendication 32, caractérisé en ce que ladite mutation est une substitution par un acide aminé possédant une faible affinité pour lesdits cations métalliques.

34. Anticorps selon la revendication 33, caractérisé en ce que ledit acide aminé est la lysine, l'alanine, la glycine, la valine, la leucine, l'isoleucine, la proline, la méthionine, le tryptophane, la phénylalanine, la sérine ou la thréonine.
- 5 35. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 32 à 34, caractérisé en ce que les résidus His 310 et His 435 sont substitués par des résidus lysine.
36. Anticorps selon la revendication 31, caractérisé en ce que la modification est effectuée par le DEPC.
- 10 37. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 31 à 36, caractérisé en ce qu'ils appartiennent à la sous-classe des IgG1.
- 15 38. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 31 à 37, caractérisé en ce qu'il possède une activité fonctionnelle diminuée par rapport au même anticorps non modifié, ladite activité fonctionnelle étant l'activité ADCC (Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity), l'activité CDC (Complement Dependent Cytotoxicity), l'activité de phagocytose, l'activité d'endocytose ou la capacité d'induction de la sécrétion de cytokines.
- 20 39. Utilisation des anticorps 31 à 38 pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention du rejet de greffe ou au traitement d'une pathologie choisie parmi le tétanos, la diphtérie, ou provoquée par un agent pathogène ou toxine dérivée, listé
- 25 comme étant particulièrement dangereux dans les cas de bioterrorisme (classification des Centers for Disease Control, CDC), notamment l'anthrax (*Bacillus anthracis*), le botulisme (*Clostridium botulium*), la peste (*Yersinia pestis*), la variole (*Variola major*), la tularémie (*Francisella tularensis*), les fièvres hémorragiques virales (liées aux filovirus –Ebola, Marburg et aux arenavirus –Lassa, Machupo), la toxine *epsilon* de

Clostridium perfringens, la brucellose (*Brucella species*), la melioidose (*Burkholderia mallei*), la toxine de ricin (*Ricinus communis*)..

40. Utilisation de l'anticorps selon l'une quelconque des revendications 31 à 38 pour la
5 préparation d'un médicament en remplacement des IgG4.